

Method for analysing a medical sample, preventing disturbances caused by hemolysis

Patent Number: EP0695805
Publication date: 1996-02-07
Inventor(s): KLEIDER WILHELM (DE); WILD THOMAS DR (DE); BERDING CHRISTOPH DR (DE); WEBER FRIEDERIKE (DE)
Applicant(s):: BOEHRINGER MANNHEIM GMBH (DE)
Requested Patent: ☐ EP0695805, A3
Application Number: EP19950112145 19950802
Priority Number (s): DE19944427492 19940803
IPC Classification: C12Q1/32 ; G01N33/72
EC Classification: C12Q1/32, G01N33/72
Equivalents: ☐ DE4427492, JP2771958B2, ☐ JP8101191

Abstract

Method for eliminating interference from haemolysis in the analysis of a medical sample comprises determining the degree of haemolysis (DH) of the sample by inducing and measuring a pre-reaction of a component in the sample before performing the main (analytical) reaction, and correcting the result of the main reaction on the basis of the correlation between the DH and the level of interference.

Data supplied from the esp@cenet database - I2

(19)



Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets



(11)

EP 0 695 805 A2

(12)

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(43) Veröffentlichungstag:
07.02.1996 Patentblatt 1996/06

(51) Int. Cl.⁶: C12Q 1/32, G01N 33/72

(21) Anmeldenummer: 95112145.8

(22) Anmeldetag: 02.08.1995

(84) Benannte Vertragsstaaten:
CH DE ES FR GB IT LI

(30) Priorität: 03.08.1994 DE 4427492

(71) Anmelder: BOEHRINGER MANNHEIM GMBH
D-68305 Mannheim-Waldhof (DE)

(72) Erfinder:
• Wild, Thomas, Dr.
D-82362 Weilheim (DE)

• Weber, Friederike
D-80803 München (DE)
• Berding, Christoph, Dr.
D-81667 München (DE)
• Kleider, Wilhelm
D-82418 Murnau (DE)

(74) Vertreter: Böhm, Brigitte, Dr. Dipl.-Chem. et al
D-81679 Munich (DE)

(54) **Verfahren zur Analyse einer medizinischen Probe unter Vermeldung von Störbeiträgen aufgrund von Hämolyse**

(57) Zur Analyse einer medizinischen Probe unter Vermeidung von Störbeiträgen aufgrund von Hämolyse wird vor der Hauptreaktion für eine in der Probe enthaltene Komponente eine Vorreaktion erzeugt und gemessen, durch die der Hämolysegrad der Probe bestimmt und das nachfolgend erhaltene Ergebnis der zu bestimmenden Probe um diesen Störbeitrag unter Ausnutzung des gefundenen Zusammenhangs (Korrelation) zwischen dem Hämolysegrad und dem Störbeitrag korrigiert wird.

EP 0 695 805 A2

Beschreibung

Das vorliegende Patent betrifft ein Verfahren zur Analyse einer medizinischen Probe unter Vermeidung von Meßfehlern aufgrund von Hämolyse.

5 Das häufigste Untersuchungsmaterial für biochemische Analysen ist Blutserum oder Plasma. Es ist bekannt, daß bei der Bestimmung verschiedener Analyten aus Blutserum oder Blutplasma Fehler auftreten können, die das Ergebnis der Messung beeinflussen und die durch die Eigenschaften der Probe verursacht werden. Meßfehler in diesem Sinne kommen insbesondere durch hämolytisches Probengut zustande. Die Hämolyse kann bei Blutproben in besonderem Maße die analytischen Meßergebnisse verfälschen.

10 Wenn bei einer Blutprobe Hämolyse auftritt, dann ist ein Teil der roten Blutkörperchen zerstört worden, und die dabei freiwerdenden Inhaltsstoffe kontaminieren das Probengut. Dies hat zur Folge, daß durch die Inhaltsstoffe der Blutkörperchen, wie z.B. Hämoglobin, die analytischen Serum- oder Plasmawerte verfälscht werden.

Zur Behebung dieses Nachteils wird in der Patentschrift US-A-4,263,512 die Bestimmung von interferierendem Chromogen in einer Blutprobe zusammen mit dem Analyten vorgeschlagen und die Korrektur des Meßfehlers gemäß dem Grad der Hämolyse (korreliert mit Chromogenkonzentration) empfohlen. Bei dieser konventionellen Korrekturmethode wird jedoch nur der von Erythrozyten freigesetzte rote Blutfarbstoff für die Bestimmung des Meßfehlers bei hämolytischem Probenmaterial herangezogen. In der EP-0 268 025 B1 wird darauf hingewiesen, daß ein quantitativer Zusammenhang zwischen dem Grad der Hämolysestörung, der Analytkonzentration und dem durch die Störung erzeugten Meßfehler besteht. Dieser Zusammenhang läßt sich mit Hilfe der multiplen Regression darstellen. Die aus dieser Anpassung ableitbaren Korrekturfaktoren erlauben dann auf der Basis einer unabhängig bestimmten Hämolysestörung, z.B. über eine Hb-Wertmessung (unter Vernachlässigung eventueller zusätzlicher Abhängigkeiten von Analytkonzentration) die Berichtigung des Analysenergebnisses.

Der klinisch chemische Analyzer "Synchron CX 5" der Firma Beckman benutzt ein Set von 2 bis 5 Wellenlängen für die Messung von Reaktionsverläufen und Kompensation von störendem Background. Über eine geeignete Auswahl nicht reaktionsrelevanter zusätzlicher Wellenlängen ist es möglich, endogene spektrale Interferenzen automatisch zu korrigieren. Im 16-Sekundentakt erfolgt ein "eight flash photometric measurement", d.h. bei max. 5 Wellenlängen werden $8 \times 5 = 40$ Meßdaten generiert. Für die Signalkorrektur wird dann die folgende polychromatische Gleichung verwendet:

$$\text{Absorptionsdifferenz} = \text{Differenz} (A - B - C - D - E + k)$$

30 wobei

A = Absorptionsänderung der bichromatisch gemessenen Analytreaktion
 B - E = gewichtete bichromatische Korrektur-Wellenlängen und
 35 k = Konstante, mit der der spektrale Einfluß von Seren in Abwesenheit von Lipämie, Hämolyse oder Ikterus berücksichtigt wird.

Abhängig vom Analysenautomat kann die polychromatische Korrektur, wenn sie Bestandteil einer Testapplikation ist, entweder kategorisch (Beckman-Analyzer) erfolgen, oder aber erst oberhalb eines testspezifischen Grenzwertes, ab welchem der Interferenzfehler die Probenwiederfindung sichtbar beeinflußt.

40 Aufgabe der vorliegenden Erfindung war es jedoch, eine Analysenmethode bereitzustellen, die es ermöglicht, Meßfehler durch kontaminierende Bestandteile in einer Blutserumprobe oder in einer Blutplasma Probe von hämolytischem Blut mit einer gegenüber herkömmlichen Korrekturverfahren verbesserten Richtigkeit und deutlich reduziertem Arbeitsaufwand zu bestimmen.

45 Gelöst wird die Aufgabe durch ein Verfahren zur Analyse einer medizinischen Probe unter Vermeidung von Meßfehlern aufgrund von Hämolyse, bei dem vor der eigentlichen photometrischen Bestimmung einer in der Probe enthaltenen Komponente die Probe einer Vorreaktion unterworfen wird, durch die der Hämolysegrad der Probe bestimmt wird, und der nachfolgend erhaltene Meßwert der zu bestimmenden Komponente korrigiert wird um einen Wert, der durch Korrelation des Hämolysegrades mit dem Meßfehlerbeitrag von störenden Komponenten ermittelt wurde.

50 Im Vergleich zum Stand der Technik zeichnet sich das erfindungsgemäße Verfahren durch den Vorteil aus, daß für die Korrektur des Meßwertes einer hämolytischen Probe keine unabhängige Bestimmung des Hämolysegrades, z.B. durch Bestimmung des Hämoglobinwertes in einer Probe, erforderlich ist. Vielmehr konnte ein Zusammenhang zwischen dem Hämolysegrad einer Probe und der bei hämolytischen Seren oder Plasmen festgestellten Vorreaktion festgestellt werden. Die Vorreaktion läuft hierbei in Gegenwart von Probe und einem Reagenz ab, jedoch vor Zugabe des Startreagenzes der eigentlichen Meßwertbestimmung.

55 Mit Hilfe des in der vorliegenden Erfindung beschriebenen biometrischen Modells ist es möglich, den Hämolysegrad einer Probe direkt aus der von ihr verursachten Vorreaktion abzuschätzen und eine entsprechende Korrektur des Analysenergebnisses durchzuführen. Als weiterer Fehlerbeitrag für die Analyse ist zu berücksichtigen, daß bei Bestimmung bestimmter Substanzen ebenfalls ein falsches Resultat für hämolytische Proben erhalten werden kann, wenn diese

Substanz auch in roten Blutkörperchen vorhanden ist, und dadurch nach Hämolyse ebenfalls zusätzlich in der zu analysierenden Probe vorhanden ist. Auch dieser Meßfehlerbeitrag wird durch das erfindungsgemäße Verfahren berücksichtigt, da in die Vorreaktion automatisch neben dem Hämolysegrad auch der Analytgehalt der Probe eingeht.

Das erfindungsgemäße Verfahren erlaubt eine Korrektur von Hämolysemeßfehlern und bewirkt im Referenzbereich (31 U/l bei Frauen, 37 U/l bei Männern) eine besonders effiziente Korrektur (< 10 % Wiederfindungserhöhung (s. Figur 1)).

Zusätzlich konnten außerhalb des Referenzbereiches Störungen bis zu einer Größenordnung von 80 %, die mit Verfahren gemäß dem Stand der Technik erhalten wurden, mit der entsprechenden Korrektur auf kleiner gleich 30 % reduziert werden.

Das erfindungsgemäße Verfahren berücksichtigt allein über die Vorreaktion die individuellen Eigenschaften der Probe, so daß basierend auf den bisherigen experimentellen Daten weitere spezifische Korrekturverfahren für das Probegut entfallen. Es sind insbesondere keine zusätzlichen Messungen erforderlich. Dies ist ein bedeutender Vorteil gegenüber den bisher beschriebenen Korrekturverfahren für hämolytische Seren oder Plasmen.

In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung wird die Vorreaktion ebenfalls photometrisch erfaßt. Es ist hierbei besonders bevorzugt, daß die photometrische Bestimmung bichromatisch, und insbesondere bei 340/405 nm erfolgt und der eigentliche Meßwert durch Differenzbildung der Ergebnisse beider Wellenlängen zustande kommt.

Die Einleitung der Vorreaktion erfolgt bevorzugt durch Zugabe eines Reagenzes, welches NADH und LDH enthält. In einer besonders bevorzugten Ausführungsform enthält das Reagenz zusätzlich MDH.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird die Beziehung zwischen dem durch die Vorreaktion bestimmten Hämolysegrad und dem Meßfehlerbeitrag durch die störenden Komponenten, wie insbesondere Hämoglobin oder auch der zu bestimmenden Komponente, die jedoch aufgrund der Hämolyse in der Probe vorhanden ist, auf einer breiten Basis für eine große Probandengruppen heterogenen Gesundheitszustandes, Alters und Geschlechts abgesichert.

In einem besonders bevorzugten Verfahren wird der Zusammenhang zwischen der Vorreaktion und der Hauptreaktion bezüglich der zu bestimmenden Komponente mit Hilfe der Formel

$$\text{Rate}_{\text{Substanz/Probe}} = \text{Rate}_{\text{total}} - \text{Rate}_{\text{Vorreaktion}} - \text{Rate}_{\text{Substanz/Erythrozyten}}$$

definiert, wobei Substanz die zu bestimmende Komponente in der Probe bedeutet.

Eine Möglichkeit zur Entstörung konnte nämlich mit Hilfe eines mathematischen Zusammenhangs zwischen der Vorreaktion und der Hauptreaktion festgestellt werden. Ein schematischer Reaktionsverlauf ist in Figur 2 dargestellt und der mathematische Zusammenhang für die Gesamtreaktion lautet

$$\text{Rate}_{\text{total}} = \text{Rate}_{\text{Substanz/Probe}} + \text{Rate}_{\text{Substanz/Erythrozyten}} + \text{Rate}_{\text{Vorreaktion}}$$

wobei mit Substanz die zu bestimmende Komponente gemeint ist, die entweder in Serum oder in Erythrozyten enthalten ist. Dies bedeutet, daß sich die Meßwertänderung pro Zeiteinheit (Gesamtkinetik) aus dem Signal des hämolysefreien Serums sowie dem der Erythrozyten und der Vorreaktion, die über die Zugabe des eigentlichen Bestimmungsreagenzes hinaus andauert, zusammensetzt. Um hieraus den störungsfreien Serumwert zu berechnen, muß die Formel folgendermaßen aufgelöst werden:

$$\text{Rate}_{\text{Substanz/Probe}} = \text{Rate}_{\text{total}} - \text{Rate}_{\text{Substanz/Erythrozyten}} - \text{Rate}_{\text{Vorreaktion}}$$

und führt zu der oben genannten Formel zur Bestimmung von $\text{Rate}_{\text{Substanz/Probe}}$.

Mit dem erstellten Datensatz kann anhand einer multiplen linearen Regression folgendes Modell zur Berechnung der $\text{Rate}_{\text{Substanz/Erythrozyten}}$ herangezogen werden:

$$\text{Rate}_{\text{Substanz/Erythrozyten}} = \alpha \times \text{Rate}_{\text{Vorreaktion}} + \beta \times (\text{Rate}_{\text{Vorreaktion}})^2$$

(s. Figur 4)

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung ist es besonders bevorzugt, daß die für die Berechnung des korrigierten Wertes erforderliche Formel auf einem Datenträger gespeichert wird und dieser für eine automatische Korrektur der Analyseergebnisse mit Hilfe der elektronischen Datenverarbeitung verwendet wird.

Besonders bevorzugt ist, wenn der Wert des Meßfehlers bereits durch die auf dem Datenträger gespeicherten Informationen berechnet werden kann. Hierzu werden dem Datenträger die Daten eingespeichert, die für die Beziehung zwischen dem durch die Vorreaktion bestimmten Hämolysegrad und dem Meßfehlerbeitrag für eine große Probandengruppe ermittelt wurde.

Besonders bevorzugt wird das Verfahren so angewandt, daß der korrigierte Wert der gestörten Komponente auf dem Ausdruck und/oder auf dem Display einer elektronischen Datenverarbeitung angezeigt wird, welche für die Messung eingesetzt wird. Es ist dabei wiederum bevorzugt, daß der korrigierte Wert mit einem Toleranzbereich angegeben wird.

Jedoch kann es zweckmäßig sein, die Korrektur des Meßwertes nur innerhalb bestimmter Toleranzgrenzen automatisch durchführen zu lassen und außerhalb dieser Toleranzgrenzen Korrekturen nach entsprechender Berücksichtigung der Umstände von Hand durchzuführen.

Das erfindungsgemäße Verfahren wird besonders bevorzugt bei zu bestimmenden Komponenten angewandt, die ausgewählt sind aus (a) der Analytgruppe, die entsprechend dem biochemischen Reaktionstypus von GOT/GPT detektiert wird und/oder (b) zu einer Analytgruppe gehört, die aus Gesamtprotein, Albumin, LDH, Kalium, Gesamtcholesterin, freiem Cholesterin, Harnsäure, Triglyceriden, Natrium, Chlorid, β -Lipoproteinen, Thymoltrübungstesten, Zinksulfattrübungstesten, Phospholipiden und freien Fettsäuren besteht. Es ist dabei auch möglich und eine bevorzugte Ausführungsform der Erfindung, eine Komponente zu bestimmen, deren Konzentration in roten Blutzellen höher ist als im Blutserum oder im Blutplasma.

Das erfindungsgemäße Verfahren stellt also eine leicht automatisierbare und schnell durchführbare Möglichkeit dar, in Blut, Blutserum oder Plasma enthaltene Komponenten zu bestimmen und hierbei Meßfehlern aufgrund von Hämolyse zu vermeiden, wobei nur zusätzlich zur der eigentlichen Bestimmungsreaktion eine Vorreaktion durchgeführt wird, welche die Bestimmung des Hämolysegrades erlaubt.

Die vorliegende Erfindung wird durch die beigefügten Figuren und die Beispiele weiter erläutert.

BEISPIEL 1

Experimente zur Bestimmung des Parameters Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT)

Die GOT-Aktivität wird durch hämolytisches Probenmaterial stark gestört und führt zu falsch positiven Ergebnissen. Eine deutliche Abhängigkeit zwischen Hämolysegrad und Erhöhung der GOT-Aktivität liegt vor. Bei Serumwerten von ca. 20 U/l wird GOT bei einem Hb-Wert von 500 mg/dl um 80 % mit Verfahren gemäß des Standes der Technik zu hoch gemessen. Diese Störung beruht vor allem darauf, daß GOT in den Erythrozyten enthalten ist und damit ein direkter Bezug zwischen Hämolysegrad und Aktivitätserhöhung besteht.

Testprinzip des GOT-Tests:

α -Ketoglutarat + L-Asparat $\xrightarrow{\text{GOT}}$ L-Glutamat + Oxalacetat $\xrightarrow{\text{MDH}}$ Oxalacetat + NADH + H⁺ $\xrightarrow{\text{MDH}}$ L-Malat + NAD⁺

Die Messung erfolgt bei 340 nm (Hauptwellenlänge) und 405 nm (Nebenwellenlänge). Detektiert wird der NADH-Abbau.

Hämolsatherstellung 1:

Blutabnahme (Heparin-Plasma)/Zentrifugieren/Überstand werfen/Blutkuchen mit 0,9 % NaCl 3x waschen und Erythrozyten mit Wasser zum Platzen bringen und über Glaswolle filtrieren/Hb-Gehalt bestimmen. Zum Aufstocken Serum vom selben Spender werfen.

Hämolsatherstellung 2:

Blutabnahme (Serum)/Zentrifugieren/Serum aufbewahren/Blutkuchen mit Glasperlen versetzen und 2 - 3 Stunden kräftig rühren/Zentrifugieren (Glasperlen dienen als Trennschicht zwischen Zellrückständen und Hämolsat)/Überstand abpipettieren und Hb-Gehalt bestimmen.

Die folgenden Resultate wurden unter Anwendung der Hämolsatherstellung 2 mit 20 verschiedenen Seren in unterschiedlichen Konzentrationsbereichen erhalten.

Die Aufstockung der o.g. Seren erfolgte in 8 Schritten: 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500 mg/dl Hb (Figur 3).

Die Messungen wurden am klinisch chemischen Analysenautomaten Hitachi 717 mit den Meßpunkten 10 - 20 (Vorreaktion) und 30 - 50 (Hauptreaktion) durchgeführt.

Um das oben beschriebene Korrekturverfahren zu validieren, wurde zunächst ein Panel von nicht hämolytischen Humanseren am Analysenautomat Hitachi 717 vermessen und die gefundenen GOT-Aktivitäten als BM-Sollwerte definiert.

Daraufhin wurden 25 Seren aus diesem Panel mit bis zu 8 verschiedenen Hämolsat-Aufstockungen (insgesamt 217 Proben) vermessen.

Die Methodenvergleiche zwischen den korrespondierenden Meßwerten von nicht hämolytischem ("Sollwert") und hämolytischem Probengut ("Istwert") ohne und mit Korrekturverfahren zeigen die Figur 4 (Korrelation zwischen Soll- und Istwerten = 0,923) und die Figur 5 (Korrelation zwischen Soll- und Istwerten = 0,981). Dieses mehrfach reproduzierte Ergebnis zeigt deutlich, daß die hämolytische Interferenz über das hier angegebene Verfahren effizient korrigiert werden kann.

Klärung der Vorreaktion:

1. Einfluß des Reagenzes

5

10

15

20

Zusammensetzung Reagenz 1:	
1. Natriummonohydrogenphosphat	Puffer A
2. Natriumdihydrogenphosphat	
3. L(+)-Mono-Natriumaspartat	
4. LDH	
5. NADH	Enzymtabletten + Füllstoffe
6. MDH	
Konservierungsmittel: Na-Azid	

In Austauschversuchen konnte geklärt werden, was den Anstieg der Vorreaktion bei 340/405 nm verursacht, und wie sich hierbei die Hauptreaktion verhält:

25

30

35

40

45

50

Puffer + hämolytische Probe	Vorreaktion	Hauptreaktion
Original	↑↑	↓↓
Puffer A	--	--
" + LDH	--	--
" + MDH	--	--
" + NADH	↓	↓
" + LDH + MDH + NADH	↑	↓↓
" + MDH + LDH	-	-
" + MDH + NADH	↓	↓↓
" + LDH + NADH	↑	↓

Bei der Zugabe des Reagenzes R1 zu einer hämolytischen Probe tritt mit steigendem Hämolysegrad eine Vorreaktion mit Signalanstieg auf. Die Messung erfolgt bichromatisch bei 340/405 nm.

55

Wird dieselbe Messung bei 340 nm durchgeführt, kann keine Vorreaktion festgestellt werden. Bei 405 nm hingegen findet eine Reaktion mit abnehmendem Signal statt (Figuren 6 und 7). Die steigende Vorreaktion kommt demnach aufgrund der Differenzbildung zwischen den beiden Wellenlängen zustande.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Analyse einer medizinischen Probe unter Vermeidung von Störbeiträgen aufgrund von Hämolyse, bei dem vor der Hauptreaktion für eine in der Probe enthaltene Komponente eine Vorreaktion erzeugt und gemessen wird, durch die der Hämolysegrad der Probe bestimmt wird und das nachfolgend erhaltene Ergebnis der zu bestimmenden Probe um diesen Störbeitrag unter Ausnutzung des gefundenen Zusammenhangs (Korrelation) zwischen dem Hämolysegrad und dem Störbeitrag korrigiert wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Vorreaktion ebenfalls photometrisch erfaßt wird.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die photometrische Bestimmung bichromatisch bei 340/405 nm erfolgt und der eigentliche Meßwert durch Differenzbildung der Ergebnisse beider Wellenlängen zustande kommt.
4. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Einleitung der Vorreaktion durch Zugabe eines Reagenzes erfolgt, welches NADH und LDH enthält.
5. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß das Reagenz zusätzlich MDH enthält.
6. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Beziehung zwischen dem durch die Vorreaktion bestimmten Hämolysegrad und dem Meßfehlerbeitrag durch die störenden Komponenten auf einer breiten Basis für eine große Probandengruppe heterogenen Gesundheitszustandes, Alters und Geschlechts abgesichert ist.
7. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Korrelation der Vorreaktion mit der Bestimmungsreaktion bezüglich der zu bestimmenden Komponente erfolgt über die Formel

$$\text{Rate}_{\text{Substanz/Probe}} = \text{Rate}_{\text{total}} - \text{Rate}_{\text{Vorreaktion}} - \text{Rate}_{\text{Substanz/Erythrozyten}}$$
 wobei Substanz die zu bestimmende Komponente in der Probe bedeutet.
8. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die für die Berechnung des korrigierten Wertes erforderliche Formel auf einem Datenträger gespeichert wird und dieser für eine automatische Korrektur der Analysenergebnisse mit Hilfe der elektronischen Datenverarbeitung verwendet wird.
9. Verfahren nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß der Wert des Meßfehlers durch die auf dem Datenträger gespeicherten Informationen berechnet werden kann.
10. Verfahren nach einem der Ansprüche 8 oder 9, dadurch gekennzeichnet, daß der korrigierte Wert der gestörten Komponente auf dem Ausdruck und/oder auf dem Display der elektronischen Datenverarbeitung erscheint.
11. Verfahren nach Anspruch 8 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß der korrigierte Wert mit einem Toleranzbereich angegeben wird.

12. Verfahren nach einem der Ansprüche 10 oder 11,
dadurch gekennzeichnet,
daß die Korrektur des Meßwertes nur innerhalb bestimmter Toleranzgrenzen automatisch erfolgt.

5 13. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die zu bestimmende Komponente ausgewählt wird
aus (a) der Analytgruppe, die entsprechend dem biochemischen Reaktionstypus von GOT/GPT detektiert wird
und/oder (b) zu einer Analytgruppe gehört, die aus Gesamtprotein, Albumin, LDH, Kalium, Gesamtcholesterin,
freiem Cholesterin, Harnsäure, Triglyceriden, Natrium, Chlorid, β -Lipoproteinen, Thymoltrübungstesten, Zinksulfat-
trübungstesten, Phospholipiden und freien Fettsäuren besteht.

10 14. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei eine Komponente bestimmt wird, deren Konzentration
in roten Blutzellen höher ist als im Blutserum oder im Blutplasma.

15

20

25

30

35

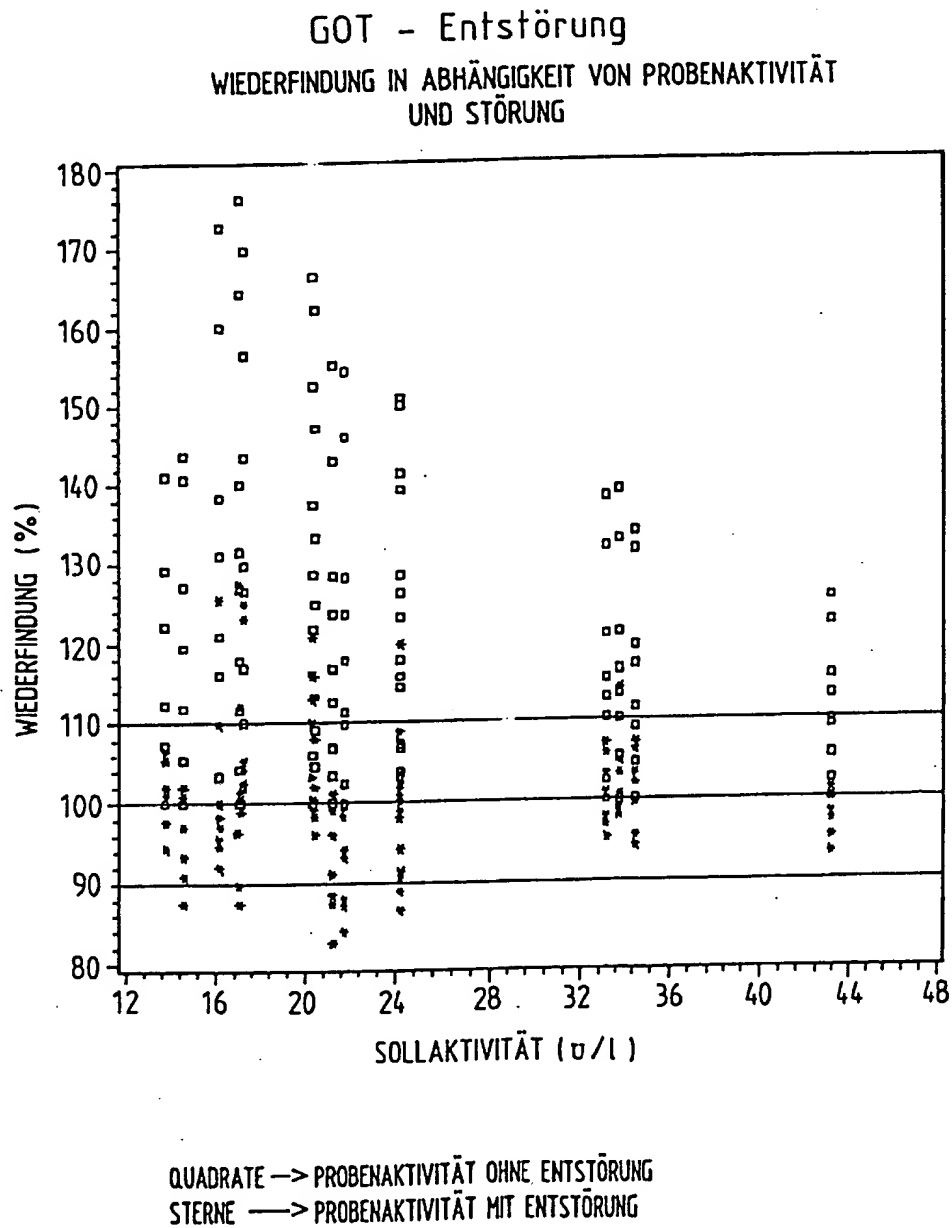
40

45

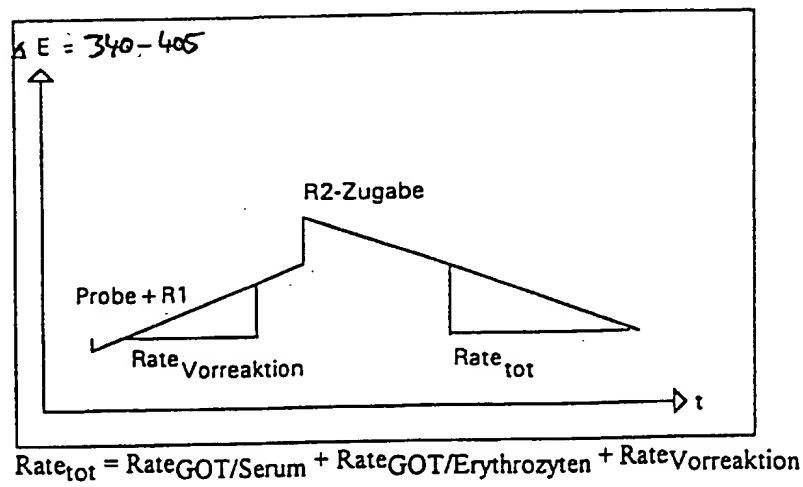
50

55

Fig.1



Figur 2



Figur 3

Aufstockungsversuche bei 20 Seren mit einem Hämolystat ohne Entstörung

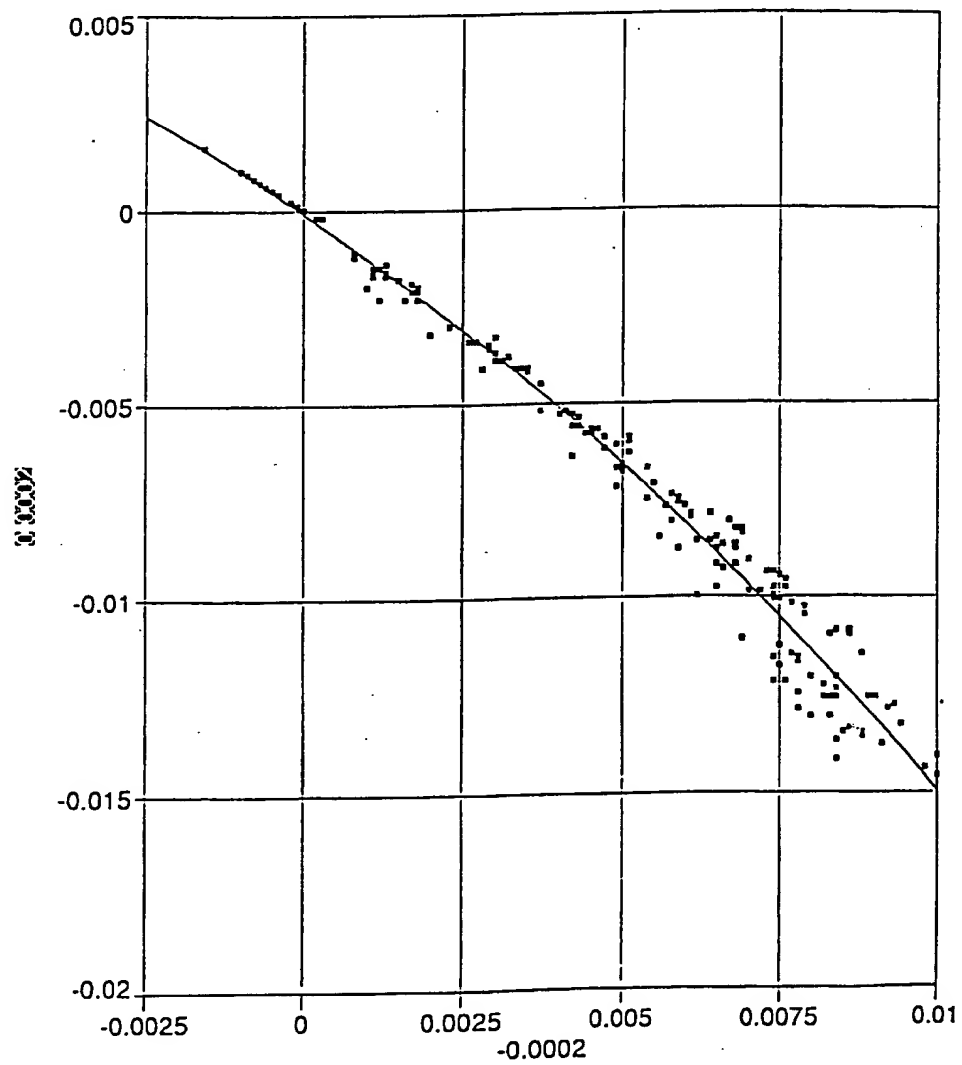
Seren	Serum(U/l)	WDF %	+50 *	+100 *	+150 *	+200 *	+250 *	+300 *	+400 *	+500 *
1	24,15	100,0%	101,6%	107,7%	108,9%	116,3%	124,5%	130,3%	141,7%	152,5%
2	20,37	100,0%	105,2%	109,8%	114,1%	122,6%	126,7%	136,0%	150,3%	166,0%
3	16,08	100,0%	103,7%	110,9%	117,4%	122,6%	133,5%	141,4%	165,3%	177,9%
4	16,96	100,0%	104,6%	112,6%	119,2%	128,9%	133,8%	143,0%	169,3%	182,0%
5	21,66	100,0%	102,7%	110,6%	112,0%	118,8%	125,2%	130,4%	148,6%	157,7%
6	17,18	100,0%	102,0%	110,9%	118,1%	128,5%	132,0%	146,6%	160,0%	174,4%
7	21,21	100,0%	103,7%	107,4%	113,5%	117,9%	125,5%	130,6%	145,0%	158,6%
8	33,15	100,0%	106,7%	101,9%	110,3%	112,5%	115,4%	120,9%	132,5%	139,2%
9	48,05	100,0%	103,0%	104,6%	107,6%	109,9%	113,1%	115,3%	123,0%	127,2%
10	24,16	100,0%	104,2%	107,2%	115,6%	119,1%	127,2%	130,1%	143,8%	154,0%
11	34,48	100,0%	104,4%	106,0%	108,9%	111,5%	117,0%	119,6%	131,8%	134,4%
12	33,75	100,0%	106,0%	106,0%	110,5%	114,0%	117,5%	121,7%	134,4%	140,4%
13	43,17	100,0%	102,1%	105,5%	109,2%	109,9%	113,2%	115,5%	122,5%	125,9%
14	85,86	100,0%	103,7%	104,7%	106,5%	106,9%	110,3%	111,8%	115,2%	118,3%
15	221,20	100,0%	99,9%	100,8%	102,6%	102,1%	103,6%	105,1%	102,4%	105,2%
16	59,00	100,0%	105,3%	103,7%	105,7%	107,5%	109,3%	112,2%	117,3%	122,3%
17	57,42	100,0%	101,4%	106,5%	105,6%	106,7%	110,2%	111,3%	117,7%	122,5%
18	20,32	100,0%	106,6%	110,9%	117,2%	123,3%	130,3%	139,9%	155,5%	170,5%
19	14,54	100,0%	105,9%	112,8%	121,0%	129,3%	144,1%	147,3%	-	-
20	13,72	100,0%	108,1%	113,6%	124,1%	131,9%	144,8%	-	-	-

* mg/dl Hämoglobin

Figur 4

got

Rank 5 Eqn 1003 $y=a+bx+cx^2$



Figur 5

Vergleich: BM entstört (Rate-plus) gegen BM- Sollwerte

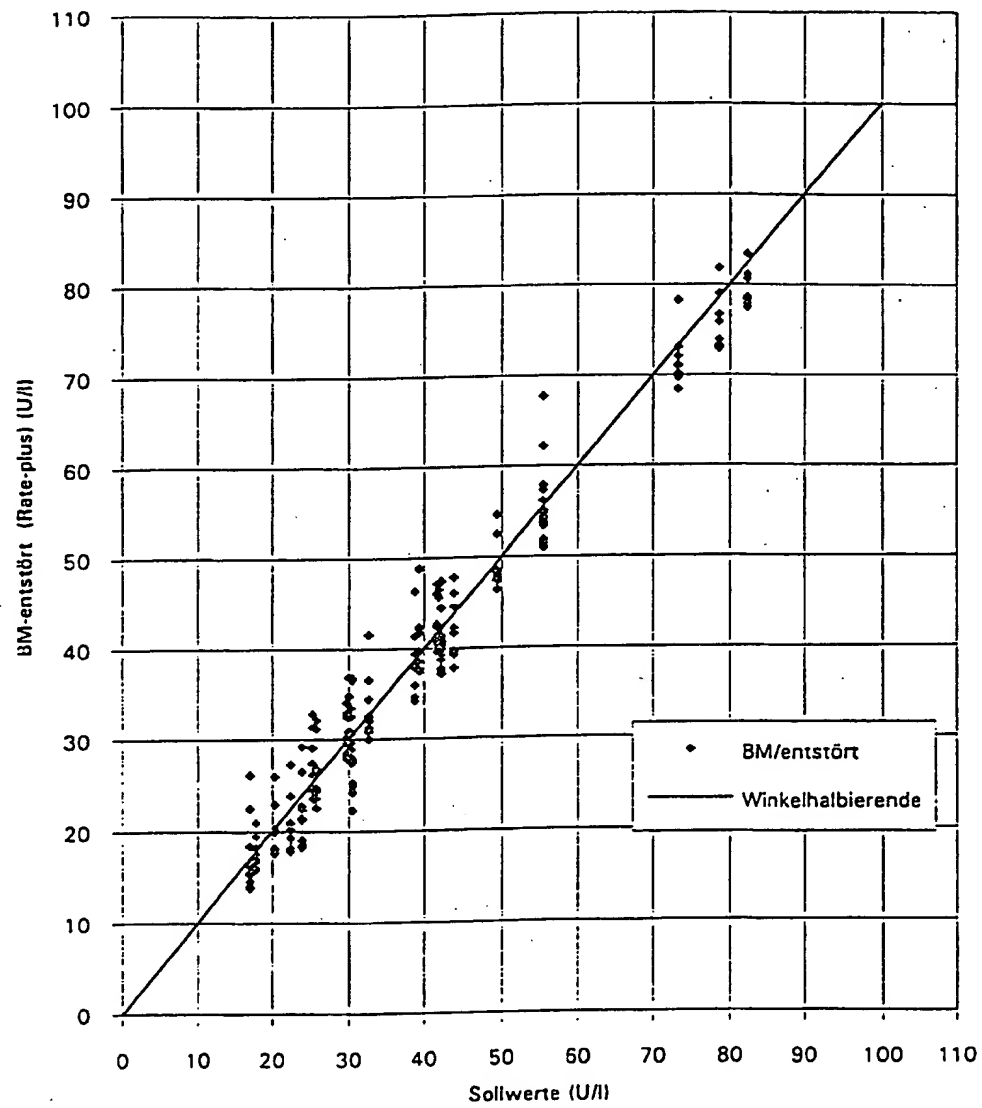


Fig. 6

E / t - DIAGRAMM

GOT Hb - KONZENTRATIONSREIHE WL 340 nm

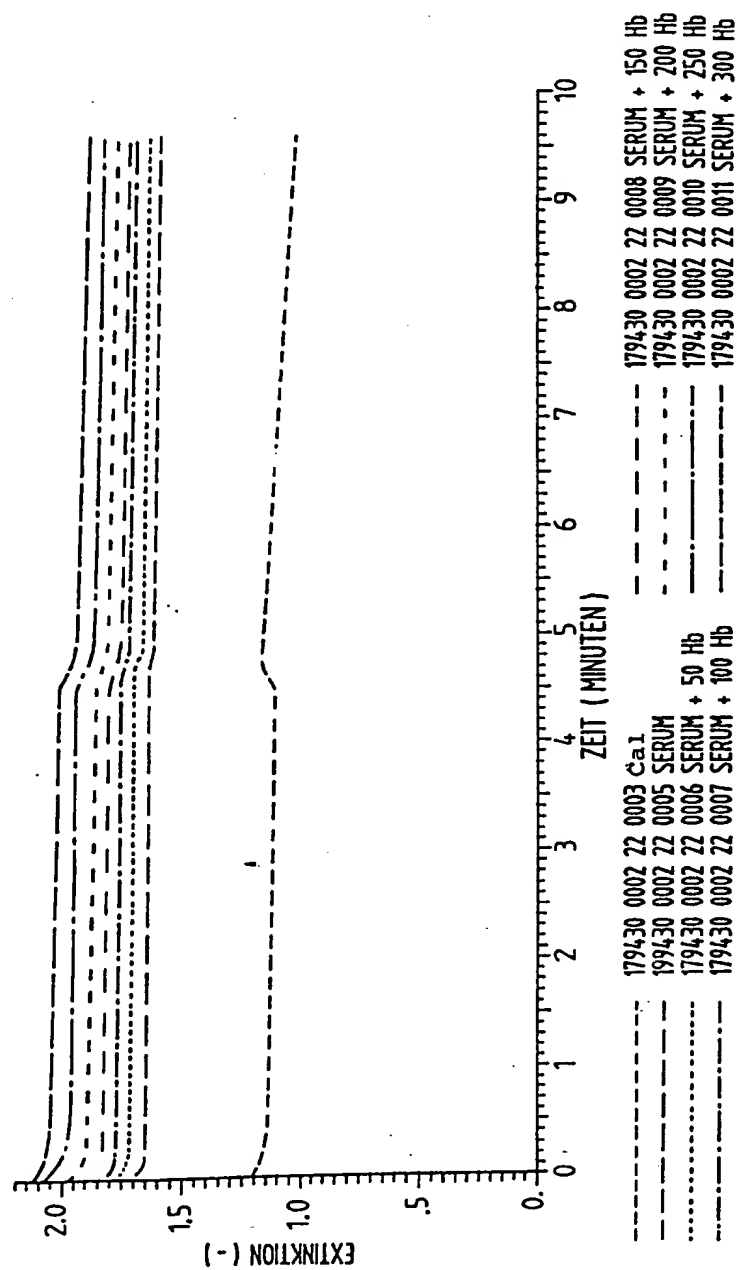
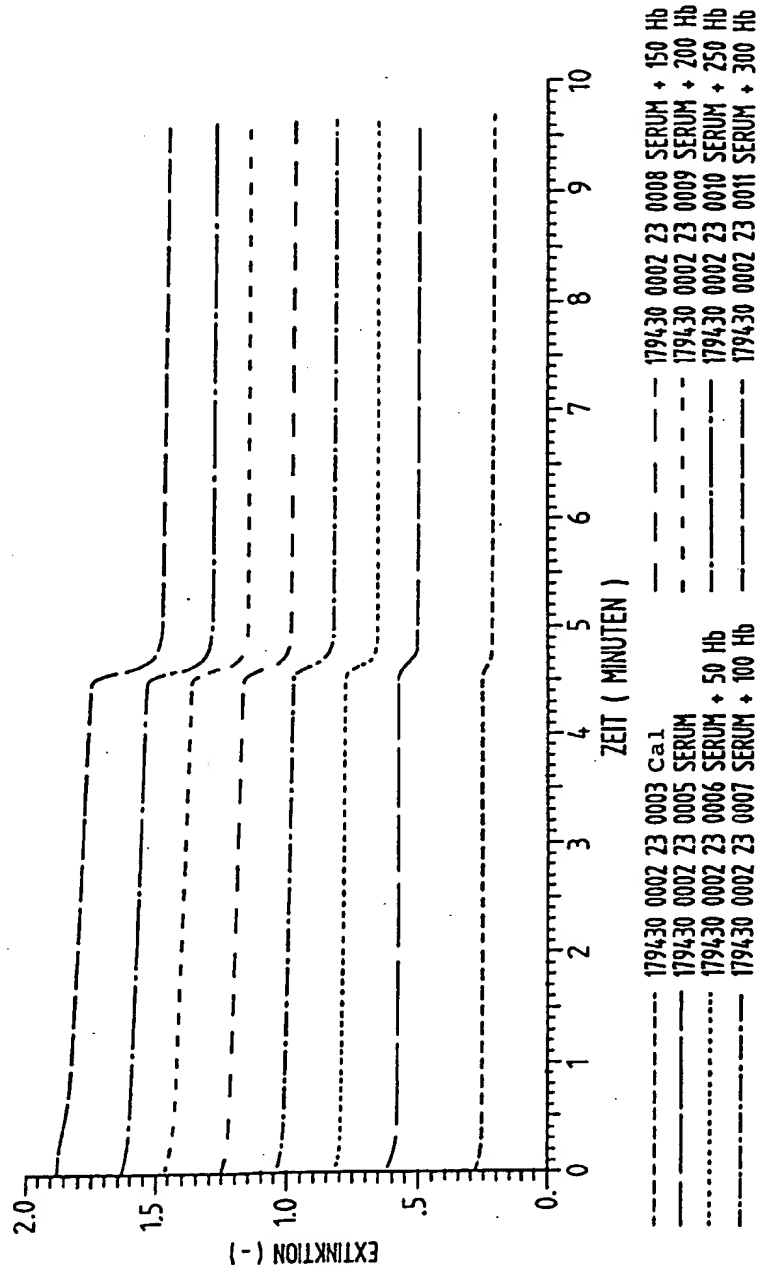
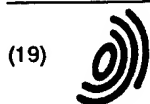


Fig.7

E / t - DIAGRAMM

GOT Hb - KONZENTRATIONSREIHE WL 405 nm





Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets



(11) EP 0 695 805 A3

(12)

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(88) Veröffentlichungstag A3:
01.05.1996 Patentblatt 1996/18

(51) Int. Cl.⁶: C12Q 1/32, G01N 33/72

(43) Veröffentlichungstag A2:
07.02.1996 Patentblatt 1996/06

(21) Anmeldenummer: 95112145.8

(22) Anmeldetag: 02.08.1995

(84) Benannte Vertragsstaaten:
CH DE ES FR GB IT LI

(30) Priorität: 03.08.1994 DE 4427492

(71) Anmelder: BOEHRINGER MANNHEIM GMBH
D-68305 Mannheim-Waldhof (DE)

(72) Erfinder:
• Wild, Thomas, Dr.
D-82362 Weilheim (DE)

• Weber, Friederike
D-80803 München (DE)
• Berding, Christoph, Dr.
D-81667 München (DE)
• Kleider, Wilhelm
D-82418 Murnau (DE)

(74) Vertreter: Böhm, Brigitte, Dr. Dipl.-Chem. et al
Kopernikusstrasse 9
D-81679 Munich (DE)

(54) Verfahren zur Analyse einer medizinischen Probe unter Vermeidung von Störbeiträgen aufgrund von Hämolyse

(57) Zur Analyse einer medizinischen Probe unter Vermeidung von Störbeiträgen aufgrund von Hämolyse wird vor der Hauptreaktion für eine in der Probe enthaltene Komponente eine Vorreaktion erzeugt und gemessen, durch die der Hämolysegrad der Probe bestimmt und das nachfolgend erhaltene Ergebnis der zu bestimmenden Probe um diesen Störbeitrag unter Ausnutzung des gefundenen Zusammenhangs (Korrelation) zwischen dem Hämolysegrad und dem Störbeitrag korrigiert wird.

EP 0 695 805 A3



Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung
EP 95 11 2145

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.Cl.6)
D,A	EP-A-0 268 025 (HITACHI LTD) 25.Mai 1988 * das ganze Dokument *	1-14	C12Q1/32 G01N33/72
A	DE-A-28 47 176 (HITACHI LTD) 7.Juni 1979 * das ganze Dokument *	1-3,6, 13,14	
D	& US-A-4 263 512		
A	GB-A-2 026 692 (COULTER ELECTRONICS) 6.Februar 1980 * Zusammenfassung *	1,2	
A	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 012 no. 368 (P-766) ,4.Oktober 1988 & JP-A-63 120243 (HITACHI LTD) 24.Mai 1988, * Zusammenfassung *	1,2	
A	EP-A-0 139 985 (BOEHRINGER MANNHEIM GMBH) 8.Mai 1985		
			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int.Cl.6)
			C12Q G01N
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenort BERLIN		Abschlußdatum der Recherche 28.Februar 1996	Prüfer Ceder, O
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE		T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentedokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus andern Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument	
X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : mündliche Offenbarung P : Zwischenliteratur			

EPO FORM 150 (12.12.1994) (P04/C03)